



DEUTSCHES  
PATENTAMT

②① Aktenzeichen: P 41 22 661.5  
②② Anmeldetag: 9. 7. 91  
②③ Offenlegungstag: 13. 2. 92

DE 41 22 661 A 1

③⑩ Innere Priorität: ③② ③③ ③①  
06.08.90 DE 40 24 886.0 19.03.91 DE 41 08 903.0

⑦① Anmelder:  
A. Nattermann & Cie GmbH, 5000 Köln, DE

⑦④ Vertreter:  
Hauck, H., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing., 8000  
München; Graalfs, E., Dipl.-Ing., 2000 Hamburg;  
Wehnert, W., Dipl.-Ing., 8000 München; Döring, W.,  
Dipl.-Wirtsch.-Ing. Dr.-Ing.; Beines, U., Dipl.-Chem.  
Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 4000 Düsseldorf

⑦② Erfinder:  
Wingen, Franz, Dr., 5204 Lohmar, DE; Hager, Jörg;  
Brägas, Bettina, 5000 Köln, DE; Seits, Hanns Martin,  
Prof. Dr.; Sahm, Monika, 5300 Bonn, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Pharmazeutisches Produkt

⑤⑦ Es wird ein pharmazeutisches Produkt für die parenterale  
bzw. pulmonale Anwendung beschrieben, das mindestens  
ein Liposomensystem und mindestens einen Wirkstoff auf  
der Basis von Pentamidin, seinen Derivaten und/oder Salzen  
aufweist. Hierbei umfaßt das Liposomensystem eine Kombi-  
nation von mindestens einem Phospholipid mit mindestens  
einem phospholipidischen Ladungsträger.

DE 41 22 661 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft ein pharmazeutisches Produkt nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1.

Pharmazeutische Produkte, die als Wirkstoff Pentamidin, dessen Derivate und/oder dessen Salze, insbesondere das Pentamidin-Isethionat, aufweisen, haben sich seit geraumer Zeit zur Behandlung von verschiedenen Infektionskrankheiten bewährt. Hierbei werden derartige pharmazeutische Produkte beispielsweise zur Behandlung der durch Trypanosomen verursachten afrikanischen Schlafkrankheit oder von Kala-Azar, die durch Leishmaniasen verursacht wird, eingesetzt. Eine neue Anwendung dieser pharmazeutischen Produkte besteht in der Behandlung von Pneumocystis-carinii-Pneumonie (PcP). Hierbei stellt die Pneumocystis-carinii-Pneumonie eine allgemein auftretende Infektion des immunabwergeschwächten Körpers dar, die besonders häufig bei AIDS-Patienten feststellbar ist. Mehr als 80% der AIDS-Patienten erkranken an Pneumocystis-carinii-Pneumonie (PcP), die unbehandelt meist tödlich verläuft.

Bisher wurden zur Behandlung der eingangs aufgeführten Erkrankungen die hierfür eingesetzten bekannten pharmazeutischen Produkte, die als Wirkstoff Pentamidin, dessen Salze und/oder deren Derivate aufweisen, intravenös, intramuskulär oder als Infusionen gegeben. Auch wurde bereits versucht, diese Produkte oral anzuwenden, wobei jedoch die orale Anwendung nicht die gewünschten Effekte ergeben.

Problematisch bei den zuvor genannten Darreichungsformen ist jedoch, daß hierbei sehr leicht eine Reihe von teilweise sehr schwerwiegenden Nebenwirkungen auftritt, u. a. an der Niere, der Leber und der Pankreas. So treten bei 23% aller behandelten Patienten Nephrotoxizität und bei 50% aller Patienten Hypoglykämie auf (K.L. Goar, Drugs 1987 (33), S. 252 ff.).

Um die zuvor beschriebenen unerwünschten Nebenwirkungen auszuschließen, wurde bereits versucht, Pentamidin-Aerosole zu verabreichen. Hierdurch konnte festgestellt werden, daß die bisher bekannten, schwerwiegenden Nebenwirkungen weitgehend vermieden werden. Jedoch traten bei einer derartigen Anwendung bei 90% der Patienten andere unangenehme Nebenwirkungen in der Lunge auf, die sich in entsprechenden Hustenreizen und Hustenanfällen äußerten (A.B. Montgomery et al, The Lancet, August 1987, S. 480 ff.).

So beschreibt beispielsweise die EP A 03 09 519 eine entsprechende Aerosol-Zusammensetzung zur Behandlung von PcP, die ausschließlich aus Pentamidinpulver und einem Treibmittel besteht.

Zur Vermeidung der vorstehend aufgeführten Nebeneffekte ist es weiterhin bekannt, entsprechende pharmazeutische Produkte einzusetzen, bei denen der Wirkstoff in einem Liposomensystem eingekapselt ist. So beschreibt beispielsweise die EP A 02 80 503 allgemein ein Herstellungsverfahren für Liposome, in die eine Reihe von Wirkstoffen, u. a. auch Pentamidin, eingekapselt werden kann. Ebenso schlägt die EP A 03 15 467 ein in Liposome verkapseltes Pentamidin vor.

Ein pharmazeutisches Produkt mit den Merkmalen des Oberbegriffs des Patentanspruchs 1 ist aus der Veröffentlichung von R.J. Debs et al in Am. Rev. Respir. Dis. 1987 (135), S. 731 ff. zu entnehmen. Hierbei wird zur Vermeidung der vorstehend aufgeführten unerwünschten Nebeneffekten bei der pulmonalen Anwendung ein Pentamidin-Isethionat in wäßriger Lösung auf übliche

2  
Weise in Liposome eingekapselt. Diese pharmazeutische Zubereitung weist jedoch den Nachteil auf, daß sie sofort nach der Herstellung angewendet werden muß, da die Liposomenlösung nicht stabil ist.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein pharmazeutisches Produkt der angegebenen Art zur Verfügung zu stellen, das bei einer besonders langen Haltbarkeit eine hohe pharmazeutische Wirksamkeit aufweist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein pharmazeutisches Produkt mit den kennzeichnenden Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst.

Das erfindungsgemäße pharmazeutische Produkt für die parenterale oder pulmonale Anwendung weist mindestens ein Liposomensystem und mindestens einen Wirkstoff auf der Basis von Pentamidin, seinen Derivaten und/oder Salzen auf. Hierbei umfaßt das erfindungsgemäße pharmazeutische Produkt als Liposomensystem eine Kombination von mindestens einem Phospholipid mit mindestens einem phospholipidischen Ladungsträger.

Überraschend konnte festgestellt werden, daß das erfindungsgemäße pharmazeutische Produkt selbst nach einer langen Lagerzeit von mehreren Monaten bis zu drei Jahren seine pharmazeutische Wirksamkeit im vollen Umfang beibehält. Auch läßt sich die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung ohne Ausbildung von Trübungen oder Wandablagerungen, eines Bodensatzes handhaben, insbesondere auch steril filtrieren. Diese positiven Eigenschaften werden darauf zurückgeführt, daß das erfindungsgemäße pharmazeutische Produkt im Gegensatz zu den vorstehend aufgeführten bekannten pharmazeutischen Produkten ein Liposomensystem aufweist, das neben den Phospholipiden den mindestens einen phospholipidischen Ladungsträger umfaßt.

Besonders gute Eigenschaften bezüglich der pharmazeutischen Wirksamkeit und Haltbarkeit weist eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Produktes auf, bei dem die Phospholipide Phosphatidylcholin umfassen oder insbesondere aus hochreinem Phosphatidylcholin bestehen. Hierbei ist im Rahmen der vorliegenden Anmeldung unter hochreines Phosphatidylcholin eine solche Zusammensetzung zu verstehen, die weniger als etwa 10 Gew.% Verunreinigungen enthält.

Vorzugsweise weist das erfindungsgemäße Produkt als phospholipidischen Ladungsträger mindestens ein Salz, insbesondere ein Natrium- und/oder Ammoniumsalz, von Phosphatidylglycerol und/oder dessen Derivaten auf. Hierfür werden insbesondere als Ladungsträger Alkalisalze oder Ammoniumsalze von Dimyristoylphosphatidylglycerol und/oder von Dipalmitoylphosphatidylglycerol als negative phospholipidische Ladungsträger eingesetzt.

Grundsätzlich kann bei dem erfindungsgemäßen pharmazeutischen Produkt das Phosphatidylglycerol, das bei der zuvor beschriebenen Ausführungsform in Form eines entsprechenden Salzes vorliegt und somit den bevorzugten phospholipidischen Ladungsträger bildet, aus jeder natürlichen Substanz nach den an sich bekannten Verfahren isoliert werden. Besonders geeignet ist es jedoch, wenn das Phosphatidylglycerol bzw. die zuvor genannten Derivate davon aus Soja-Bohnen isoliert wird, da das entsprechende Salz, insbesondere das Natriumsalz, des Soja-Phosphatidylglycerols dem Liposomensystem und damit auch dem erfindungsgemäßen Produkt eine besonders lange Haltbarkeit verleiht.

Bezüglich der Massenverhältnisse des Phospholipids bzw. der Phospholipide und insbesondere des Phosphatidylcholins zum negativen phospholipidischen Ladungsträgers ist festzuhalten, daß dieses Massenverhältnis zwischen 50 : 1 (Phospholipid: Ladungsträger) bis 400 : 1, vorzugsweise von 100 : 1 bis 200 : 1, variiert.

Als Wirkstoff weist das erfindungsgemäße Produkt, wie bereits vorstehend dargelegt, mindestens einen Wirkstoff auf Basis von Pentamidin, seinen Derivaten und/oder Salzen auf. Hierbei stellt Pentamidin chemisch das 4,4'-(Pentamethyldioxy)-dibenzamidin dar, wobei unter die Derivate entsprechende Verbindungen fallen, die an einem oder beiden aromatischen Systemen dieser Verbindung substituiert sind. Als Pentamidin-Salz ist insbesondere das Pentamidin-Isethionat zu nennen, das chemisch als 4,4'-(Pentamethyldioxy)-dibenzamidin-bis(2-hydroxyethansulfonat) anzusprechen ist.

Die Konzentration der zuvor genannten Wirkstoffe variieren bei dem erfindungsgemäßen Produkt abhängig von seiner jeweiligen Applikationsform und der Häufigkeit seiner Anwendung. Allgemein liegt die Wirkstoffkonzentration zwischen 0,01 Gew.% und 10 Gew.%.

Wird beispielsweise das erfindungsgemäße Produkt für die pulmonale Anwendung als Aerosol vorgesehen, was sich als besonders vorteilhaft erwiesen hat, da hier eine bessere Verteilung der Wirkstoffe in der Lunge und eine verbesserte Penetration in die Erreger sowie eine geringe Nebenwirkung festgestellt werden konnte, so empfiehlt es sich, für die Prophylaxe 20 bis 300 mg Pentamidin dessen Salze oder dessen Derivate alle vier Wochen zu inhalieren oder 14-täglich 10 mg bis 200 mg Pentamidin, dessen Derivate oder Salze zu geben.

Soll hingegen das erfindungsgemäße Produkt zur Behandlung bereits aufgetretener Pneumocystis-carinii-Pneumonie-Infektionen eingesetzt werden, so werden täglich bis zu 600 mg Pentamidin, Pentamidinderivate bzw. Pentamidinsalze über einen Zeitraum zwischen etwa 10 Tagen und etwa 30 Tagen, vorzugsweise von etwa 21 Tagen, inhaliert. Um hierbei die möglicherweise patientenspezifisch auftretenden Nebenwirkungen auf ein Mindestmaß weiter zu reduzieren, ist es stets erforderlich, diese zuvor angegebenen Mengen patientenindividuell abzustimmen und während der Gabe eine strenge ärztliche Kontrolle durchzuführen.

Die zuvor beschriebenen besonders vorteilhaften Wirkungen des erfindungsgemäßen pharmazeutischen Produktes bei der pulmonalen Anwendung eines entsprechenden Aerosols werden darauf zurückgeführt, daß offensichtlich ein synergistischer Effekt des Wirkstoffes in der Kombination mit den Phospholipiden und dem Ladungsträger begründet ist, was dazu führt, daß die entsprechenden Erreger in sehr kurzer Zeit mit einem hohem Wirkungsgrad eliminiert werden.

Um das erfindungsgemäße Produkt herzustellen, bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten.

So sieht die erste Möglichkeit vor, daß zunächst das Phospholipid zusammen mit dem phospholipidischen Ladungsträger in einem geeigneten, nicht wäßrigen Lösungsmittel, wie beispielsweise Ethanol, gelöst wird. Anschließend wird die so hergestellte Lösung unter Vakuum bis zur Trockenheit schonend eingeengt. Das so erhaltene Phospholipidgemisch wird dann unter Ausbildung der entsprechenden Liposomendispersion mit Wasser vermischt und ggf. einer Hochdruckspalthomogenisation bei mehreren Umläufen unterworfen, um so auf einen gewünschten mittleren Partikeldurchmesser, der zwischen etwa 50 nm und etwa 180 nm, vorzugswei-

se zwischen etwa 70 nm und etwa 130 nm, liegt, zu kommen. Bei der Herstellung der Liposomendispersion wird dann zusammen mit dem Wasser der Wirkstoff bzw. die Wirkstoffdispersion zugegeben, so daß der Wirkstoff bzw. die Wirkstoffe in die entsprechenden sich hierbei bildenden Liposomen eingekapselt wird bzw. werden. Hiernach erfolgt unter sterilen Bedingungen eine Filtration über ein entsprechend kleinporiges Filter, beispielsweise ein 0,2 µm Filter.

Die zweite Möglichkeit zur Herstellung unterscheidet sich von dem ersten Herstellungsverfahren dahingehend, daß die Wirkstoffe bzw. der Wirkstoff zu einem späteren Zeitpunkt erst zugegeben werden bzw. wird. Hierbei wird, wie vorstehend beschrieben, die Liposomendispersion zunächst ohne Wirkstoff hergestellt, und die so erstellte Liposomendispersion unter aseptischen Bedingungen abgefüllt und ggf. gefriergetrocknet.

Anschließend erfolgt unmittelbar vor der Verwendung die Redispergierung des gefriergetrockneten Liposomensystems durch Zugabe von einer geeigneten Menge Wasser, wobei in dieser Stufe dann erst der Wirkstoff zugegeben wird, so daß unmittelbar vor der Anwendung des pharmazeutischen Produktes erst der Zusatz des Wirkstoffes erfolgt.

Bei nicht gefriergetrockneten Liposomensystemen erfolgt die direkte Vermischung mit dem Wirkstoff bzw. den Wirkstoffen.

Vorteilhafte Weiterbildungen des erfindungsgemäßen pharmazeutischen Produktes sind in den Unteransprüchen angegeben.

Die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen pharmazeutischen Produktes wird nachfolgend anhand von Beispielen belegt.

Zum Nachweis der Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Produktes wurde an mit Immundefekten prädisponierten Ratten nach Tötung die Lunge entnommen und präpariert. Auf entsprechende Kulturplatten wurden Pneumocystis-carinii-Pneumonie-Erreger als Suspension aufgebracht. Die Pneumocystis-carinii-Pneumonie-Erreger wurden mit den nachfolgend wiedergegebenen drei Formulierungen 1 bis 3 behandelt.

Die Wirksamkeit der Formulierungen 1 bis 3 wurde dabei über die Zahl der nach der Anwendung vorhandenen Trophozoiten und die Zahl der Zysten bestimmt.

#### Formulierung 1

Pentamidin-Isethionat in Wasser, 100 mg Wirkstoff pro 100 ml Formulierung 1;

#### Formulierung 2

Liposomensystem der folgenden Zusammensetzung:  
10,92% (M/V) Phospholipide, bestehend aus  
91,54 Gew.-% Phosphatidylcholin, 0,46 Gew.-% Soja-  
Phosphatidylglycerol-Natriumsalz, 6 Gew.-% Ethanol,  
2 Gew.-% Wasser  
89,08% (M/V) Alkohol-Wassergemisch mit einem Ethanolgehalt von 2 Gew.-%;

#### Formulierung 3

wie Formulierung 2, jedoch unter Zusatz von 100 mg Pentamidin-Isethionat pro 1000 ml Formulierung 2.

Ergänzend hierzu wurde ein Blindversuch durchgeführt, bei dem die Pneumocysten nicht behandelt wurden. Hierbei konnte festgestellt werden, daß diese Kontrollgruppe, wie erwartet, gleichbleibend die höchste Trophozoitenzahl besaß.

Die entsprechende Trophozoitenzahl bei einer Be-



handlung mit der Formulierung 1 erfuhr einen deutlichen Rückgang. Überraschend konnte des weiteren festgestellt werden, daß die Formulierung 2, die lediglich aus dem Phospholipidgemisch besteht, ebenfalls die Trophozoitenzahl reduzierte. Die beste Wirkung in bezug auf die Reduzierung der Trophozoitenzahl ergab die Formulierung 3, die eine drastische Reduzierung der Trophozoitenzahl ergab. Hier ging die entsprechende Trophozoitenzahl innerhalb von 2 1/2 Tagen auf 0 zurück.

Des weiteren wurde ein Vergleichsversuch durchgeführt, bei dem die Formulierung 3 nach jeweils einer Standzeit von 2 Monaten, 4 Monaten und 16 Monaten erneut angewendet wurde. Hier konnte in der Kinetik der Trophozoitenzahlreduzierung keine Abweichung festgestellt werden, d. h. auch bei diesen gealterten Formulierungen ging die Trophozoitenzahl innerhalb von 2 1/2 Tagen auf 0 zurück.

#### Patentansprüche

1. Pharmazeutisches Produkt für die parenterale oder pulmonale Anwendung, das mindestens ein Liposomensystem und mindestens einen Wirkstoff auf der Basis von Pentamidin, seinen Derivaten und/oder Salzen aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Liposomensystem eine Kombination von mindestens einem Phospholipid mit mindestens einem phospholipidischen Ladungsträger umfaßt.
2. Produkt nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Phospholipide Phosphatidylcholin umfassen.
3. Produkt nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Phospholipide aus hochreinem Phosphatidylcholin bestehen.
4. Produkt nach einem der vorangehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es als phospholipidischen Ladungsträger mindestens ein Salz, vorzugsweise Natrium- und/oder Ammoniumsalz, von Phosphatidylglycerol und/oder dessen Derivaten aufweist.
5. Produkt nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß es als Ladungsträger das Salz von Dimyristoylphosphatidylglycerol und/oder Dipalmitoylphosphatidylglycerol aufweist.
6. Produkt nach Anspruch 4 oder 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Phosphatidylglycerol ein Soja-Phosphatidylglycerol ist.
7. Produkt nach einem der vorangehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es das mindestens eine Phospholipid zu dem mindestens einen phospholipidischen Ladungsträger in einem Massenverhältnis von 50 : 1 bis 400 : 1, vorzugsweise von 100 : 1 bis 200 : 1, aufweist.
8. Produkt nach einem der vorangehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es den Wirkstoff in einer Konzentration zwischen 0,001 Gew.% und 10 Gew.% enthält.
9. Verwendung des Produktes nach einem der vorangehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es als Aerosol angewendet wird.
10. Verwendung des Produktes nach einem der vorangehenden Ansprüche 1 bis 9 zur Prophylaxe und/oder Behandlung der Pneumocystis-carinii-Pneumonie.